

BIOLISA TOXOPLASMOSE IgG

REF K127

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação quantitativa e qualitativa de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano por ensaioimunoenensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA Toxoplasmo IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa e quantitativa indireta de Anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano. Anticorpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii*, presentes na amostra, se ligam aos Antígenos revestidos na microplaca formando Complexos Antígeno-Anticorpos IgG. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos Anti-IgG humano conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca, que é então incubada. Os Anticorpos Anti-IgG humano conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgG presentes, ligados aos Antígenos. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado produzindo uma cor azul, que indica a quantidade de Anticorpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES

- 1- Padrões Referência (A - D)** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Quatro (4) frascos (A - D) de Padrões Referência contendo Anticorpos IgG para Anti-*Toxoplasma gondii* em diferentes concentrações em Solução de Tampão e conservante. **Potencialmente infectante:**
As concentrações dos Padrões Referência (A - D) variam a cada lote. Vide rótulo dos frascos.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase e conservante.
3- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8°C.
4- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
5- Diluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão e conservante.
6- Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
7- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgG não reativos para *Toxoplasma gondii* e conservantes. **Potencialmente infectante.**
8- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* e conservantes. **Potencialmente infectante.**
9- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
10- Seladores de Placa

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Padrões Referência (A - D)	1 Frasco (A - D) x 100 µL	2 Frascos (A - D) x 100 µL	5 Frascos (A - D) x 100 µL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Placa sensibilizada	1 Unidade (96 Cavidades)	2 Unidades (96 Cavidades)	5 Unidades (96 Cavidades)
4- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
5- Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
6- Substrato	1 Frasco x 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
10 – Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no item anterior
- Instruções de uso (manual)

Materiais necessários não contidos no kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 e 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluída.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito sob temperatura ambiente (até 30°C) por até 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e estocar a 2 - 8°C.
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 6- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
- 7- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.

- 8- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
- 9- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
- 10- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco, e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
- 11- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
- 12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Utilizar soro ou plasma (EDTA ou Heparina). Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N°4 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30°C até a data de validade impressa no frasco original. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Padrões Referência (A - D), Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.

- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (A - D), Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
- 2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra nas cavidades previamente determinadas.
- 4- Pipetar 5 µL de Padrões Referência (A - D), Controles e Amostras nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar o selador de placas das cavidades.
- 8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 9- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, exceto na cavidade do Branco (OPCIONAL).
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 13- Repetir o item 8.
- 14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.

- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 16- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco, Padrões Referência (A - D) e Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,100
Padrão Referência A	< 0,100
Padrão Referência B	> 0,2 e < 0,6
Padrão Referência C	> Abs B e < Abs D
Padrão Referência D	> 1,4
Controle Positivo	> 1,0
Controle Negativo	< 0,100

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Considerar como Cut Off a absorbância média obtida com o Padrão Referência B. Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Padrão Referência B	A1 = 0,356
	A2 = 0,352
Cut Off = Absorbância média do Padrão Referência B	Cut Off = (0,356 + 0,352) / 2 Cut Off = 0,354

Calcular o Índice dividindo a absorbância da Amostra pelo valor de Cut Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	0,933
Valor de Cut Off	0,354
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	Índice = 0,933 / 0,354 Índice = 2,635

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usados para cálculo dos resultados.

QUANTITATIVO

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de anticorpos Anti-*Toxoplasma gondii* em amostras desconhecidas.

Preparo da Curva de Calibração

Registrar as absorbâncias obtidas na Leitora de microplaca, como apresentado no exemplo 1. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas).

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência *versus* a concentração correspondente em UI/mL em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico). Traçar a curva.

Exemplo 1

PADRÕES	ABSORBÂNCIA	ABSORBÂNCIA MEDIA	CONCENTRAÇÃO
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,377	0,372	32,0
	0,367		
C	0,872	0,872	75,0
	0,873		
D	1,851	1,837	300,0
	1,824		

As amostras que tenham absorbância acima do Padrão Referência D, devem ser pré-diluídas utilizando Diluente de Amostra e devem ser testadas novamente. A concentração deve ser multiplicada pelo fator de diluição. Leitura automática e cálculo podem ser realizados através da função de ponto a ponto em programas adequados de computador.

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usados em substituição à curva de calibração, que deve ser construída no laboratório.

RESULTADOS

RESULTADOS	QUALITATIVO	QUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRAÇÃO
Negativo	≤ 0,90	≤ 28
Positivo	≥ 1,00	≥ 32
Indeterminado	0,91 - 0,99	29 - 31

Observação: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Precisão

REPETIBILIDADE
A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,894	1,658	0,076
Desvio padrão	0,096	0,027	0,008
Coefficiente de Variação (%)	5,105	1,642	11,058

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,844	1,639	0,078
Desvio padrão	0,092	0,022	0,012
Coefficiente de Variação (%)	5,485	1,468	12,74

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA Toxoplasmose IgG analisou amostras clínicas em comparação com outro kit de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA Toxoplasmose IgG é 99,24% e a especificidade clínica é > 99,99%.

	Resultado Esperado	Biolisa Toxoplasmose IgG
Amostra Positiva	131	130
Amostra Negativa	68	68
Total de Amostras Testadas	199	

Sensibilidade Clínica: 99,24% (130/131)
Especificidade Clínica: > 99,99% (68/68)

Linearidade

A reação é capaz de detectar concentrações até o do ponto mais alto da curva de calibração. Para amostras com valores superiores, diluir a mesma com Diluente de Amostra, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Toxoplasma gondii é o agente causador da toxoplasmose. É um protozoário intracelular obrigatório que tem sido encontrado em muitas espécies de aves, répteis e mamíferos. O agente pode ser transmitido através de transplante de órgãos, transfusão de sangue e de leucócitos, contato com fezes de gatos contaminados e ingestão de carnes cruas contaminadas. Nos adultos, a infecção é geralmente benigna ou assintomática. No entanto, os casos sintomáticos, incluindo casos fatais ocorrem em pacientes imunossuprimidos que tem evidência clínica ou laboratorial de danos ao sistema nervoso central. Nas crianças, o risco de infecção fetal varia de acordo com o tempo de gravidez, quando a mãe é infectada. Em infecções maternas que ocorrem durante o primeiro trimestre, a probabilidade da infecção passar para o feto é menor. No entanto, se a transmissão ocorre, desfechos graves, como aborto espontâneo e hidrocefalia, são mais prováveis. Infecções adquiridas mais tarde na gravidez, onde as transmissões fetais ocorrem com mais frequência, tendem ser menos graves, mas mesmo assim podem gerar manifestações congênitas, incluindo calcificações cerebrais e aprendizagem deficiente. Após a infecção, os anticorpos IgM aparecem em 5 dias e apresentam níveis reduzidos dentro de algumas semanas ou meses. Os anticorpos IgG aparecem geralmente de 1 - 2 semanas após a infecção, alcançando níveis de pico em 6 - 10 semanas persistindo para toda a vida.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 – 96 testes
Apresentação 2 – 192 testes
Apresentação 3 – 480 testes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Feldman, HA. Toxoplasmosis: An Overview. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
2. Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
3. McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
4. Frenkel, JK. Toxoplasma in and Around Us. Bioscience. (1973) 23:343-352.
5. Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
6. Krick, JA, and Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult – An Overview. N. Engl. J. Med. (1978) 298(10):550-553.
7. Bryan, RT, and Wilson, M. Toxoplasmosis. Lab Management (1988) 26:40-43..
8. Bioclin – Dados de arquivos

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA Toxoplasmose IgG na ANVISA: 10269360196

Revisão: Fevereiro/2019

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)

O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgG

REF K127

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test para determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii* en suero o plasma humano por enzaimainmunoensayo en microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimainmunoensayo o inmunoenzimatico
El Kit BIOLISA Toxoplasmosis IgG es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa y cuantitativa indirecta de Anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii* en el suero o plasma humano. Anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii*, presentes en la muestra, se ligan a los Antígenos revestidos en la microplaca formando Complejos Antígeno-Anticuerpos IgG. Luego a la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover los materiales no ligados. Anticuerpos Anti-IgG humano conjugados a la Peroxidasa son adicionados a la microplaca, que entonces es incubada. Los Anticuerpos Anti-IgG humano conjugados a la enzima se ligan a los Anticuerpos IgG presentes, ligados a los Antígenos. Nuevo lavado se realiza para remover los excedentes. Después de esta etapa, lo Sustrato es adicionado y incubado, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* presentes en las muestras. La Solución de Parada es adicionada para interrumpir la reacción, teniendo un cambio de color de azul para amarillo, medida en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Patrones Referencia (A - D)** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Cuatro (4) frascos (A - D) de Patrones Referencia conteniendo Anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* en diferentes concentraciones en Solución de Tapón y conservante. **Potencialmente infectante:**
Las concentraciones de los Patrones Referencia (A - D) varían a cada lote. Ved las etiquetas de los frascos.
2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpo Anti-IgG humano ligado a Peroxidasis, y conservante.
3- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8°C
4- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón, surfactante y conservante.
5- Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón y conservante.
6- Sustrato - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón conteniendo Peróxido de Urea, Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.
7- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG no reactivos para *Toxoplasma gondii* y conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* y conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorídrico 1 M.
10- Selladores de Placa

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Patrones Referencia (A - D)	1 Frasco (A - D) x 100 µL	2 Frascos (A - D) x 100 µL	5 Frascos (A - D) x 100 µL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
4- Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
5- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
6- Sustrato	1 Frasco x 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
7- Control Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Control Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
10- Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el ítem anterior
- Instrucciones de uso (manual)

Materiais necesarios, mas no contenidos en el kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 y 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- 8- Agua destilada o deionizada.
- 9- Herramientas de Control de Calidad.
- 10- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
3- El sobre de aluminio conteniendo las microplacas debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar a 2 - 8°C.
4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.

- 8-** Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
9- Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
10- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco, y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.
11- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o etapas de incubación.
12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA o Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas. Las muestras pueden ser conservadas bajo refrigeración, entre 2 y 8°C, por el período máximo de 5 días. Si las muestras no pudieran ser analizadas dentro de 5 días, pueden ser almacenadas por hasta 30 días a temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del frasco N°4 (Solución de Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validez impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

- Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Patrones Referencia (A - D), Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Patrones Referencia (A - D), Controles y Muestras (se recomienda probar en duplicado). Regresar las tiras no utilizadas de la microplaca al embalaje original sellado.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Pipetear 100 µl de Diluyente de Muestra em cavidades predeterminadas.
4- Pipetear 5 µL de Patrones Referencia (A - D), Controles y Muestras en las cavidades previamente determinadas. Observar el cambio de color del diluyente en el momento de la adición de la muestra. El cambio de color indica que la muestra se ha agregado al pocillo correctamente.
5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir las cavidades con sellador de placas.
6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
7- Retirar el sellador de las cavidades.
8- Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Utilizar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada**, y efectuar un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, golpear la placa por unos segundos en papel absorbente.
Nota: Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
9- Pipetear 100 µl de Conjugado en todas las cavidades, excepto en la cavidad del Blanco (OPCIONAL).
10- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
11- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
13- Repetir el ítem 8.
14- Pipetear 100 µl de Sustrato en todas las cavidades.

- 15-** Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
17- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
18- Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.
19- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
20 - Leer utilizando filtro doble: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de Blanco, Patrones Referencia (A - D) y Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBÁNCIAS
Blanco	< 0,100
Padrón Referencia A	< 0,100
Padrón Referencia B	> 0,2 e < 0,6
Padrón Referencia C	> Abs B e < Abs D
Padrón Referencia D	> 1,4
Control Positivo	> 1,0
Control Negativo	< 0,100

Caso los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Considerar como Cut Off la absorbancia promedio obtenido con el Patrón Referencia B.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Padrón Referencia B	A1 = 0,356
	A2 = 0,352
Cut Off = Absorbância promedio del Patrón Referencia B	Cut Off = (0,356 + 0,352) / 2 Cut Off = 0,354

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la Muestra por el valor de Cut Off.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	0,933
Valor de Cut Off	0,354
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	Índice = 0,933 / 0,354 Índice = 2,635

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son sólo para ilustración y no se pueden utilizar para calcular los resultados.

CUANTITATIVO

Una curva de calibración es usada para determinar la concentración de anticuerpos Anti-*Toxoplasma gondii* en muestras desconocidas.

Preparo de la Curva de Calibración

Registrar las absorbancias obtenidas en la Lectora de microplaca, como presentado en el ejemplo 1. Calcular los promedios de los duplicados (caso sean realizados duplicados).
Plotear las absorbancias promedios de cada Patrón Referencia *versus* la concentración correspondiente en UI/mL en papel milimetrado (antes de plotearlas en el gráfico). Trazar la curva.

Ejemplo 1

PATRONES	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACIÓN
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,377	0,372	32,0
	0,367		
C	0,872	0,872	75,0
	0,873		
D	1,851	1,837	300,0
	1,824		

Las muestras que tengan absorbancia encima del Patrón Referencia D deben ser pre diluidas utilizando Diluyente de Muestra y deben ser probadas nuevamente. La concentración debe ser multiplicada por el factor de dilución. Lectura automática y cálculo pueden ser realizados a través de la función de punto a punto en programas adecuados de computador.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son apenas para ilustración y no pueden ser usados en substitución a la curva de calibración, que debe ser construida en el laboratorio.

RESULTADOS

RESULTADOS	CUALITATIVO	CUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRACIÓN
Negativo	≤ 0,90	≤ 28
Positivo	≥ 1,00	≥ 32
Indeterminado	0,91 - 0,99	29 - 31

Observación: En el caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada. Las muestras que obtuvieran resultados repetidamente indeterminados deben ser reanalizados utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe colectar una nueva muestra en dos semanas. Debe prevalecer el resultado de la última muestra recogida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de un test diagnóstico no debe ser establecida con base a un sólo ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados en conjunto con otras informaciones clínicas disponibles antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,894	1,658	0,076
Desvío Patrón	0,096	0,027	0,008
Coefficiente de Variación (%)	5,105	1,642	11,058

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,844	1,639	0,078
Desvío Patrón	0,092	0,022	0,012
Coefficiente de Variación (%)	5,485	1,468	12,74

Sensibilidad y Especificidad Clínica

El kit BIOLISA Toxoplasmosis IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA - Toxoplasmosis IgG es 99,24%, y la especificidad clínica es > 99,99%.

	Resultado Esperado	Biolisa Toxoplasmosis IgG
Muestra Positiva	131	130
Muestra Negativa	68	68
Total de Muestras Probadas	199	

Sensibilidad Clínica: 99,24% (130/131)

Especificidad Clínica: > 99,99% (68/68)

Linearidad

La reacción es capaz de detectar concentraciones hasta la concentración del punto más alto de la curva de calibración. Para muestras con valores superiores, diluir la misma con Diluyente de Muestra, repetir la dosis y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Toxoplasma gondii es el agente causador de la toxoplasmosis. Es un protozoo intracelular obligatorio que ha sido encontrado en muchas especies de aves, reptiles y mamíferos. El agente puede ser transmitido a través de transplante de órganos, transfusión de sangre y de leucocitos, contacto con heces de gatos contaminados y ingestión de crudas contaminadas. En los adultos, la infección es generalmente benigna o asintomática. Sin embargo, los casos sintomáticos, incluyendo casos fatales ocurren en pacientes inmunosuprimidos que hay evidencia clínica o laboratorio de daños al sistema nervioso central. En los niños, el riesgo de infección fetal varía de acuerdo con el tiempo de gravedad, cuando la madre es infectada. En Infecciones maternas que ocurren durante el primer trimestre, la probabilidad de la infección pasar para el feto es menor. Sin embargo, si hay transmisión ocurren, resultados graves, como aborto espontáneo e hidrocefalia, son más probables. Infecciones adquiridas más tarde en el embarazo, donde las transmisiones fetales ocurren con más frecuencia, tienden a ser menos graves, pero así mismo pueden generar manifestaciones congénitas, incluyendo calcificaciones cerebrales y aprendizaje deficiente. Luego de la infección, los anticuerpos IgM aparecen en 5 días y presentan niveles reducidos dentro de algunas semanas o meses. Los anticuerpos IgG aparecen generalmente de 1 - 2 semanas luego de la infección, alcanzando niveles de pico en 6 - 10 semanas persistiendo para toda la vida.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 – 96 pruebas

Presentación 2 – 192 pruebas

Presentación 3 – 480 pruebas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Feldman, HA. *Toxoplasmosis: An Overview*. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
2. Remington, JS. *Toxoplasmosis in the Adult*. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
3. McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
4. Frenkel, JK. *Toxoplasma in and Around Us*. Bioscience. (1973) 23:343-352.
5. Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
6. Krick, JA, and Remington, JS. *Toxoplasmosis in the Adult – An Overview*. N. Engl. J. Med. (1978) 298(10):550-553.
7. Bryan, RT, and Wilson, M. *Toxoplasmosis*. Lab Management (1988) 26:40-43..
8. Bioclin – Datos de archivos

GARANTIA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel. : 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Registro del kit Biolisa Toxoplasmosis IgG en la ANVISA: 10269360196

Revisión: Febrero/2019

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL POSITIVO

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

ESPAÑOL 2/2

BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgG

REF K127

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION
Test for quantitative and qualitative of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in serum or human plasma by enzyme immunoassay in microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION
Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
BIOLISA Toxoplasmosis IgG kit is a solid phase enzyme immunoassay based on the principle of indirect qualitative and quantitative detection of IgG Antibodies to *Toxoplasma gondii* in human serum or plasma. IgG Antibodies to *Toxoplasma gondii*, in the sample bind to Antigen coated on the microplate forming Complexes Antigen-Antibodies IgG. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Anti-human IgG Antibodies conjugated to Peroxidase are added to the microplate, which is then incubated. The Anti-human IgG Antibodies conjugated enzyme bind to IgG Antibodies present, linked to antigens. Further washing is performed to remove excess. After this step, the Substrate is added and incubated producing a blue color, which indicates the amount of IgG Antibodies to *Toxoplasma gondii* in the samples. Stop Solution is added to stop the reaction having a color change from blue to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS
1- Reference Standards (A - D) - Store between 2 and 8°C. Contains: Four (4) bottle (A - D) Reference Standards containing IgG Antibodies Anti-*Toxoplasma gondii* at different concentrations in Buffer Solution and preservative. **Potentially infectious.**
Reference Standard (A - D) concentration varies with the lot. See bottle label.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Human Anti-IgG Antibody linked to Peroxidase and preservative.
3- Sensitized Plate - Store between 2 and 8°C
4- Concentrated Washing - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
5- Sample Diluent - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution and preservative.
6- Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
7- Negative Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Non-reactive IgG Antibodies to *Toxoplasma gondii* and preservative. **Potentially infectious.**
8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: IgG Antibodies Anti-*Toxoplasma gondii* and preservative. **Potentially infectious.**
9- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Chloridric Acid 1 M.
10- Plate Sealers

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1- Reference Standards (A - D)	1 Flask (A - D) x 100 µL	2 Flasks (A - D) x 100 µL	5 Flasks (A - D) x 100 µL
2- Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Sensitized Plate	1 unit (96 cavities)	2 units (96 cavities)	5 units (96 cavities)
4- Concentrated Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
5- Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
6- Substrate	1 Flask x 11 mL	2 Flasks x 11 mL	5 Flasks x 11 mL
7- Negative Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
8- Positive Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
9- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
10- Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS
Materials in the kit:
- Reagents described in the above table
- Operating instructions (manual)

Required materials not contained in the kit:
1- Pipette capable of dispensing volumes of 5 and 100 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multichannel pipette (optional).
3- Microplate washer (optional).
4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5- Paper towel to dry cavities
6- Stopwatch or watch.
7- Flask to store the washing solution after diluted.
8- Distilled water.
9- Tools of Quality Control.
10- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS
The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport can be done under ambient temperature (up to 30°C) for up to 72 (seventy two) hours. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE
1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
3- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store at 2 - 8°C.
4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
5- Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
6- Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.
7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.

8- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
9- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
10- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test;
11- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps;
12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
14- Do not use the product in case of damaged packaging.
15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES
Use serum or plasma (EDTA or Heparin).
Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used.
Samples may be refrigerated at between 2 and 8°C for a maximum of 5 days. If samples can not be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C (freezer).

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENTS
Washing Solution
Dilute the contents of the Flask N°4 (Concentrated Washing) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°C until expiration date printed on the original bottle. Can be stored at room temperature. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate
The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE
Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards (A - D), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
1- Separate the cavities to be used considering: Reference Standards (A - D), Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips from the microplate to the original sealed packaging.
2- Separate the first cavity to the White (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Sample Diluent into the previously determined cavities.
4- Pipette 5 µL of Reference Standards (A - D), Controls and Samples into the previously determined cavities. Observe the color change of the diluent at the time of sample addition. The color change indicates that the sample was added to the cavities correctly.
5- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the cavities with plate sealer.
6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
7- Remove the plate sealer from the cavities.
8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (Manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared**, to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.
Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.
9- Pipette 100 µL of Conjugate into each cavities except in the Blank cavity (OPTIONAL).
10- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
12- Remove the plate sealer from the cavities.
13- Repeat item 8.
14- Pipette 100 µL of Substrate into all cavities.

15- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
17- Remove the plate sealer from the cavities.
18- Pipette 100 µL Stop Solution into all cavities.
19- Homogenize gently for ± 30 seconds.
20- Read using double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION
Verify if the results obtained by the reading of the Blank, Reference Standards (A - D) and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0,100
Reference Standard A	< 0,100
Reference Standard B	> 0,2 e < 0,6
Reference Standard C	> Abs B e < Abs D
Reference Standard D	> 1,4
Positive Control	> 1,0
Negative Control	< 0,100

If the values are out of the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE
Cut Off regarded as the mean absorbance obtained with the Reference Standard B.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Reference Standard B	A1 = 0,356
	A2 = 0,352
Cut Off = Average Absorbance from Reference Standard B	Cut Off = (0,356 + 0,352) / 2 Cut Off = 0,354

Calculate the index by dividing the Sample absorbance by the value of the Cut Off.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0,933
Cut Off Value	0,354
Index = Sample / Cut Off Value	Index = 0,933 / 0,354 Index = 2,635

Note: The data presented in the examples are for illustration only and can not be used to calculate the results.
QUANTITATIVE
A calibration curve is used to determine the concentration of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in unknown samples.

Preparation of Calibration Curve
Record the absorbance obtained in the microplate Reader as outlined in example 1. Calculate the averages of duplicates (if they are carried duplicates). Plot the absorbances of each Reference Standard *versus* the corresponding concentration in UI/mL on graph paper (before you plot them on the graph.) Plot the curve.

Example 1

STANDARDS	ABSORBANCE	AVERAGE ABSORBANCE	CONCENTRATION
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,377	0,372	32,0
	0,367		
C	0,872	0,872	75,0
	0,873		
D	1,851	1,837	300,0
	1,824		

REPEATABILITY		SAMPLE		
		1	2	3
Average		0,894	1,658	0,076
Standard Deviation		0,096	0,027	0,008
Coefficient of Variation (%)		5,105	1,642	11,058

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPRODUCIBILITY		SAMPLE		
		1	2	3
Average		0,844	1,639	0,078
Standard Deviation		0,092	0,022	0,012
Coefficient of Variation (%)		5,485	1,468	12,74

Samples that have absorbance above the Reference Standard D, must be pre-diluted using Sample Diluent and should be retested. The concentration must be multiplied by the dilution factor. Automatic reading and calculation can be performed through the point to point function in appropriate programs of computer.

Note: The data presented in the examples are for illustration only and may not be used in lieu of the calibration curve, which must be constructed in the laboratory.

RESULTS

RESULTS	QUALITATIVE	QUANTITATIVE
	INDEX	CONCENTRATION
Negative	≤ 0,90	≤ 28
Positive	≥ 1,00	≥ 32
Undetermined	0,91 - 0,99	29 - 31

Note: In case of indeterminate results, the sample must be retested. Samples that results have been obtained repeatedly indeterminate should be retested using an alternative method. If the results remain uncertain, one must collect a new sample in two weeks. Should prevail the result of the last sample collected.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test there should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with other clinical information available before the descriptive diagnosis of the disease.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,894	1,658	0,076
Standard Deviation	0,096	0,027	0,008
Coefficient of Variation (%)	5,105	1,642	11,058

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPRODUCIBILITY		SAMPLE		
		1	2	3
Average		0,844	1,639	0,078
Standard Deviation		0,092	0,022	0,012
Coefficient of Variation (%)		5,485	1,468	12,74

Clinical sensitivity and specificity

BIOLISA Toxoplasmosis IgG Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Toxoplasmosis IgG kit is 99,24% and clinical specificity is > 99,99%.

	Expected Results	Biolisa Toxoplasmosis IgG
Positive Sample	131	130
Negative Sample	68	68
Total Tested Sample	199	

Clinical Sensitivity: 99,24% (130/131)
Clinical Specificity: > 99,99% (68/68)

Linearity

The reaction is able to detect concentrations up to the highest point on the calibration curve. For samples with higher values, dilute the same with Sample Diluent, repeat the dosage and multiply the results by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Toxoplasma gondii is the causative agent of toxoplasmosis. It is an obligate intracellular protozoan that has been found in many species of birds, reptiles and mammals. The agent can be transmitted through organ transplants, blood transfusions and leukocyte, contact with cat feces contaminated and ingestion of contaminated raw meats. In adults, the infection is usually benign or asymptomatic. However, symptomatic cases, including fatal cases occur in patients immunosuppressed patients who have clinical or laboratory evidence of central nervous system damage. In children, the risk of fetal infection varies according to the time of pregnancy when the mother is infected. In maternal infections that occur during the first quarter, the probability of infection through to the fetus is smaller. However, if transmission occurs, severe outcomes such as miscarriage and hydrocephalus are more likely. Infections acquired later in pregnancy, where the transmissions fetal occur most frequently tend to be less severe, but even they can generate congenital manifestations, including brain calcification and impaired learning. After infection, IgM antibodies appear 5 days and had reduced levels within a few weeks or months. IgG antibodies usually appear 1 - 2 weeks after infection, reaching levels peak at 6 - 10 weeks persisting for life.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests
Presentation 2 - 192 tests
Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Feldman, HA. Toxoplasmosis: An Overview. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
2. Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
3. McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
4. Frenkel, JK. *Toxoplasma in and Around Us*. Bioscience. (1973) 23:343-352.
5. Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
6. Krick, JA, and Remington, JS. *Toxoplasmosis in the Adult – An Overview*. N. Engl. J. Med. (1978) 298(10):550-553.
7. Bryan, RT, and Wilson, M. *Toxoplasmosis*. Lab. Management (1988) 26:40-43.
8. Bioclin – Dados de arquivos.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Biolisa Toxoplasmosis IgG kit: 10269360196

Review: February/2019

English 2/2

UNIVERSAL SYMBOLOGY

CATALOG NUMBER

BATCH CODE

DATE OF MANUFACTURE

USED BY
(last day of month)

TEMPERATURE LIMITATION
(store at)

CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS

CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE

IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE

EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE

KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT

MANUFACTURED BY

CONTROL

POSITIVE CONTROL

NEGATIVE CONTROL

BIOLOGICAL RISK

INFLAMMABLE

CORROSIVE

POISON

CE MARK

DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED